

Beiträge

zur

Kenntniss der Bacterien im normalen Darmtractus.

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde in der Medicin, Chirurgie u. Geburtshülfe

der hohen medicinischen Fakultät

der Ludwigs-Maximilians-Universität zu München

unter dem Präsidium des

Herrn Prof. Dr. Otto Bollinger

vorgelegt von

Max Kuisl

approb. u. einjährig-freiw. Arzt aus Feldkirchen bei München.

MÜNCHEN

Jos. Ant. Finsterlin

1885.

Beiträge

zur

Kenntniss der Bacterien im normalen Darmtractus.

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde in der Medicin, Chirurgie u. Geburtshülfe

der hohen medicinischen Fakultät

der Ludwigs-Maximilians-Universität zu München

unter dem Präsidium des

Herrn Prof. Dr. Otto Bollinger

vorgelegt von

Max Kuisl

approb. u. einjährig-freiw. Arzt aus Feldkirchen bei München.



MÜNCHEN

Jos. Ant. Finsterlin

1885.

Separat-Abdruck aus dem Aerztlichen Intelligenzblatt.

Akademische Buchdruckerei von F. Straub in München.

Seinen
lieben Eltern

in grösster Dankbarkeit gewidmet

vom Verfasser.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554606_0113

Mitte April dieses Jahres ereigneten sich in hiesiger Garnison zwei Selbstmordfälle, bei denen die mikroskopische Untersuchung des Coloninhaltes ein überraschendes und zu weiteren Versuchen führendes Resultat ergab, indem nämlich in beiden Fällen eine erstaunliche Menge von spiralförmigen Bakterien vorgefunden wurde.

Diese Thatsache ist erwähnenswerth, weil das Vorkommen kommaförmiger und spiralförmiger Schizomyceten im menschlichen Darmcanal in neuester Zeit durch die Entdeckung des Koch'schen „Kommabacillus“ (besser Vibrio), der sich bekanntlich sehr häufig auch in Spiralformen entwickelt, ein besonderes Interesse gewonnen hat. Koch hatte angegeben, dass derartige Spaltpilze weder im normalen, noch kranken menschlichen Darmcanal, ausser bei Cholera asiatica gefunden würden, sah sich aber später angesichts des von Finkler und Prior aufgefundenen, dem Koch'schen sehr ähnlichen Vibrio zu der Modification veranlasst, dass zwar ähnlich geförmte Bakterien vorkämen, die aber durch das Culturverfahren von dem eigentlichen „Kommabacillus“ der Cholera unterschieden werden könnten.

Wie dem auch sei, so hat sich bei diesem Anlasse jedenfalls gezeigt, dass unsere Kenntnisse über den Bacteriengehalt des menschlichen Verdauungscanals namentlich bezüglich der dort existirenden komma- und spiralförmigen Spaltpilze eine noch sehr unvollständige ist. In der That scheint denn auch

in den bis jetzt erschienenen Arbeiten über Fäcesbakterien noch keine Beschreibung zu existiren, die den Vibrionen ¹⁾ eine genügende Aufmerksamkeit zugewendet hätte. Vor allem ist die von der Breslauer medicinischen Facultät preisgekrönte Schrift Bienstock's ²⁾ zu citiren. Bienstock fand keine Spiralförmigkeiten; er behauptet geradezu, dass „Spirochäten“ in den normalen Fäces nicht vorkommen.

Es ist deshalb Veranlassung gegeben, auf seine Schrift näher einzugehen. Bienstock verlegte sich in seiner Arbeit nicht auf blosses Mikroskopiren. Durch Anlegung von Massenculturen in Agargelatine bei Körpertemperatur suchte er die einzelnen Bakterien rein zu züchten. Durch dieses Verfahren gelang es ihm, fünf verschiedene Bacillenarten zu isoliren, (von denen er aber in seiner Schrift nur vier schildert, während die Anführung einer fünften Form vermisst wird).

Auf Grund dieses Resultates seiner Untersuchungen, die aber nicht als besonders massgebend zu betrachten sind, wenn sie, wie es scheint, nur immer an ein und derselben Person vorgenommen wurden, kommt Bienstock zu dem Schlusse, dass die normal in den Fäces vorkommenden Spaltpilze nur Bacillen seien, da nur allein diese durch ihre Dauerform, die Spore, bei Passirung des oberen Darmtractus der antibacteritischen Wirkung des Magensaftes widerstehen könnten. Er schreibt dabei wörtlich: „Ich habe dementsprechend“ (der Wirkung des Magensaftes nämlich) „niemals in den unmittelbar nach der Defäcation mikroskopisch untersuchten und mit der nöthigen Vorsicht entnommenen normalen Fäces Bacterium Termo, nie Spirochäten gesehen und Spirochäten müssten, da der Anfang des Darmtractus, die Mundhöhle, eine complete

1) Unter Vibrionen sind hier die schraubenförmigen Spaltpilze überhaupt verstanden, welche theils in Kommaformen, theils in Spiralförmigkeiten je nach dem Entwicklungszustande zur Beobachtung gelangen.

2) Ueber die Bakterien der Fäces von Berthold Bienstock, Zeitschrift für klin. Medicin. 8. Band 1. Heft.

Brutstätte für sie darbietet, sich doch am Ende des Darmtractus wieder vorfinden, wenn sie nicht auf einer Zwischenstation durch irgend eine Ursache zurückgehalten worden sind; und diese Station kann eben nur der Magen sein. Ein Punkt, der für die Entwicklungsgeschichte der Spirochäte vielleicht von Wichtigkeit sein dürfte. Man hat bisher nicht zu eruiren gewusst, ob diese Bacteriengattung sich durch Sporenbildung oder durch Theilung fortpflanzt. Ihr fast constantes Vorkommen im Zahnschleim der Mundhöhle, verbunden mit ihrem constanten Fehlen in den Excrementen, dürfte gegen eine Entwicklung durch Sporen sprechen“. Und zuletzt resumirt er dahin: „Die Bacterien der normalen Fäces sind weder Mikrocoecen noch Bacterium Termo, noch Spirochäten, sondern einzig und allein Bacillen. Die 3 ersten Gattungen werden beim Passiren des Magens durch die Salzsäure des Magensaftes getödtet. Nur die Dauerform der letzten Gruppe „Bacillus“ widersteht vermöge ihrer ausserordentlichen Resistenzfähigkeit der antiseptischen Wirkung des Magensaftes und geht ungeschädigt in den Dünndarm über, um sich hier weiter zu entwickeln“.

Dieser Schlussfolgerung Bienstocks kann man nicht beipflichten, da er die Beweise dafür auf unbegründeten Voraussetzungen aufgebaut hat; denn:

I. Die Ansicht, dass die im Darme enthaltenen Bacterien unbedingt vom Magen her eingewandert sein müssen, kann nicht zugegeben werden.

Es ist anerkannt, dass im menschlichen Organismus stets eine gewisse Zahl irgendwie von aussen eingedrungener mikro-paritärer Elemente kreist. Durch die Resistenzfähigkeit der normalen lebenden Zellen finden diese Mikroorganismen keine günstigen Bedingungen zu ihrer Weiterentwicklung und gehen schliesslich zu Grunde. Findet sich aber für die Spaltpilze irgend ein locus minoris resistentiae, so kann denselben Ge-

legenheit gegeben sein, sich anzusiedeln und ihre saprophytische oder pathogene Natur zu äussern. Diese Anschauung erhellte aus den zahlreichen bacteriologischen Beobachtungen, die an Geschwülsten, an regressiv zerfallenen Gewebsmassen, cystösen Höhlen, entzündlichen Exsudaten etc. angestellt wurden. Woher sollten aber ausserdem die Bacterien stammen, die so zahlreich in geschlossenen Abscessen, eitrigen Knochenentzündungen etc. gefunden werden, wenn sie nicht durch den Blut- oder Lymphstrom zugeführt wurden? Nun ist aber der Coloninhalt mit seinen alkalischen Verdauungssäften und Speiseresten sicher ein *locus minoris resistentiae* im genannten Sinne. Kann es unmöglich sein, dass ein Spaltpilz irgend einmal die Darmwand durchdringt, dem Inhalt sich beigesellt und dort mehr oder minder langen Aufenthalt nimmt? Ein einziges Individuum würde genügen, um bei günstigen Ernährungsbedingungen eine milliardenfache Vermehrung herbeizuführen.

Es können ausserdem in den normalen Fäces bei normaler Function des Magens und Darmes Bacterien zur Entwicklung gelangt sein, welche, ohne die Eigenschaft zu besitzen, Sporen zu bilden (z. B. Coccen) sich einst unversehrt durch den Magen infolge momentaner mangelhafter Functionirung seiner Säure hindurchgeschlichen haben. Man ginge eben zu weit, wollte man nur diejenigen Excremente als physiologisch und normal auffassen, deren Bacterien von jeher und stets einen in seiner besten antiseptischen Wirksamkeit befindlichen Magensaft zu überwinden hatten. Wie viele Menschen von ganz normaler Verdauung gibt es, bei denen nicht irgend einmal durch eine kleine Indigestion die Magensäure geschwächt war? Man braucht dabei noch nicht an alkalisch reagirende Speisen und Medicamente zu denken. Die Bacterien passiren dabei unbeanstandet Magen und Dünndarm, können im Colon längeren Aufenthalt nehmen und sich weiter entwickeln.

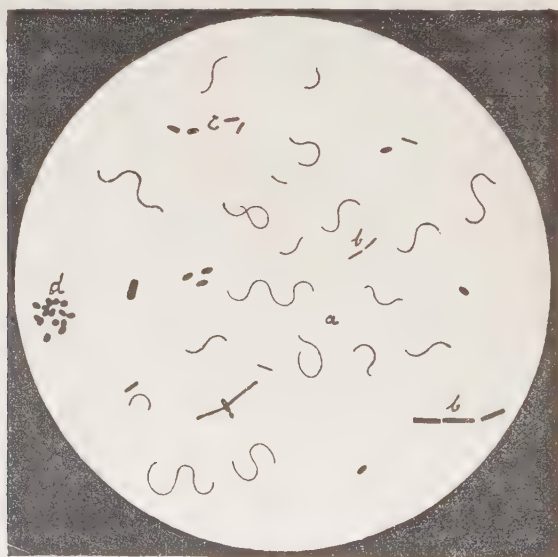
Aus dem Gesagten geht hervor, dass an den Bacterien der normalen Fäces gerade nicht unbedingt vorher die antiseptische Controle der Magensäure ausgeübt zu sein braucht und dass aus diesem Grunde immerhin Mikroccoen, Spirochäten etc. als normale Fäcesbewohner figuriren können.

Wenn Bienstock angesichts der Thatsache, dass er in den Fäces nie „Spirochäten“ fand, daraus den Schluss zieht, dass dieselben wohl mit den Speisen eingeführt, aber durch die Magensäure zurückgehalten waren, so kann das für seine Untersuchungen richtig sein, trifft aber im Allgemeinen nicht zu.

Im Pilzlaboratorium des k. Operationscursus für Militärärzte wurden gelegentlich der dort vorgenommenen bacteriologischen Beobachtungen auch zahlreiche Fäcesuntersuchungen angestellt. Von zwei gesunden Personen von ganz normaler Verdauung wurden einen Monat lang die Excremente in gefärbten mikroskopischen Präparaten untersucht. Da zeigten sich in den Fäces eines jeden Individuums fast regelmässig neben Kommaformen auch Spiralformen, letztere allerdings in sehr verschiedener Menge. (Am günstigsten waren die Präparate aus den schleimigen Parthien.) Während sie bei dem einen Individuum meist nur eine geringe Verhältnisszahl aufzuweisen hatten, so dass durchschnittlich auf ein Gesichtsfeld 1—3 Spiralformen trafen, erreichte ihre Zahl bei dem andern oft eine ganz annehmbare Höhe, indem ihr Verhältniss zu den übrigen Bacterien durchschnittlich $\frac{1}{6}$ überstieg.

Mit solchen Ergebnissen ist doch der Beweis erbracht, dass Spiralformen unter normalen Verhältnissen im Darne sowohl vorkommen als auch sich vermehren können. Unter welchen Umständen letzteres der Fall sei, darüber wurden Versuche angestellt. Ein bei beiden Individuen vorgenommenes

Experiment ergab wenigstens bei dem einen Individuum das Resultat, dass bei Ernährung mit Eiern und Fleisch bei vollständigem Ausschluss von Amylaceen die Spiralformen beträchtlich an Zahl zunahmen. (Sie wiesen in dem betreffenden Fall das Verhältniss von 1:3 auf.) Bei vorwiegender Ernährung mit Amylaceen dagegen verschwanden sie ganz oder theilweise aus den Fäces. Ebenso schienen saure Speisen für ihr Vorkommen nicht günstig zu sein.



Normale Faeces nach Genuss von Eiern und Fleisch.
a. Spiralförmige Spaltpilze. b. Langstäbchen. c. Kurzstäbchen.
d. Ovalförmige Spaltpilze. Vergrösserung 1300 mal.

Wenn es auch zahlreicher Versuche bedürfte, um hier zu bestimmten Regeln zu gelangen, so geht aus dem Angeführten doch hervor, dass die genossene Nahrung für die Entwicklungsfähigkeit gewisser Spaltpilze im Darne nicht

gleichgiltig sein kann und dass Bienstock möglicherweise schon aus diesem Grunde die Spiralformen entgangen sind.

Die Fortpflanzungsunfähigkeit der Micrococcen, „Spirochäten“ etc. infolge Einwirkens der Magensäure beweist Bienstock auch aus dem Umstande, dass sie in seinen Gelatineculturen nicht wuchsen. Dieser Beweisführung ist das Folgende entgegenzustellen:

II. Es ist ein Irrthum anzunehmen, dass der feste Nährboden (Gelatine) ein sicheres Nährmedium für alle Spaltpilze sei, dass also eine Züchtung auf demselben auch in negativer Hinsicht eine vollkommen zuverlässige Controle für das Vorkommen von Bakterien biete.

Es ist nicht nur bekannt, dass Schizomyceten, die sonst auf Gelatine ausgezeichnet gedeihen, im geschwächten Zustande aus älteren Culturen oder nicht zusagenden Nährlösungen übergezüchtet, auf derselben kein Wachsthum zeigen, dass z. B. der Koch'sche „Kommabacillus“, der sonst auf Gelatine üppig gedeiht, aus einer sehr alten Impfcultur in Nährgelatine-Plattencultur übertragen, nur mehr spärlich oder gar nicht mehr wächst, sondern es ist auch Thatsache, dass einzelne Spaltpilze in der Gelatine unbedingt kein Fortkommen finden. Vom Butylbacillus (*Clostridium butyricum*), welcher die Buttersäuregährung bewirkt und nach Nothnagel den normalen Darminhalt bewohnen soll, ist dies nachgewiesen. Wiederholt wurde der Versuch gemacht, denselben auf Fleischwasserpeptongelatine, Fleischextractpeptonzuckergelatine, ferner in eine stark zuckerhaltige (10 proc.) Gelatine, sowie auf Agar-Agar (bei 37°) überzuzüchten, doch stets wurde ein negatives Resultat erzielt, obwohl er aus den besten Nährlösungen (Glycerin, Zucker) mitten in seiner Gährthätigkeit entnommen war.

Im weiteren Verlaufe werden noch Beweise in dieser Richtung beigebracht werden.

Wenn nun Bienstock schliessen will, dass die Abwesenheit von Spirochäten-, Micrococcen- etc. Colonien bei seinen Agarculturen überhaupt das Fehlen derartiger Spaltpilze in den Fäces beweise, so muss dem gegenübergestellt werden, dass dieselben in der Gelatine möglicherweise auch desswegen nicht gedeihen können, weil sie entweder darauf überhaupt keinen zutreffenden Nährboden finden, oder weil sie in Folge ungünstiger Verhältnisse im Darne (sei es durch Ueberwuchern anderer Bacterienarten und Einwirkung ihrer Zersetzungsproducte oder durch das Fehlen der ihnen zusagenden Nährmedien oder durch andere noch unbekannte Einwirkungen z. B. Darmfermente u. s. w.) bereits geschwächt sind.

Wie aus dem Gesagten hervorgeht, ist das Plattenverfahren also bei derartigen Versuchen nicht zuverlässig und die Voraussetzung, dass die Spaltpilze überhaupt nicht mehr wachsthumsfähig sind, wenn sie in der Gelatine nicht gedeihen, eine trügerische.

Des weiteren ist nun die Zusammensetzung der Nährsubstrate im Darm einer steten Aenderung unterworfen.

Man kann dies mikroskopisch an der wechselnden Zahl der einzelnen Wuchsformen ansehen und aus der Mannigfaltigkeit der eingeführten Speisen ist es geradezu selbstverständlich.

Der grösste Theil der Bacterien in den Fäces befindet sich im geschwächten Zustande, gleicht also in seiner Wachsthumsfähigkeit denen einer alten Cultur.

Diese Folgerung ergibt sich aus den diesseits gemachten Massenculturversuchen in Agar (bei 37° C). Es zeigte sich, dass die Anzahl der gewachsenen Colonien nicht im geringsten Verhältniss stand zu der der ausgesäten Bacterien. Wenn mit 10,000 Spaltpilzen inficirt wurde, gediehen im günstigsten Falle 50 Colonien,

Die Versuche wurden, wie folgt, angestellt: Von den normalen Fäces wurde unmittelbar nach der Defäcation eine grosse Drahtöse voll (5 cmm) in 10 ccm sterilisirten Wassers vertheilt, aus dieser Suspension eine grosse Drahtöse voll auf ein Deckglas gebracht und damit ein gefärbtes Präparat gemacht, an dem man so ziemlich ersehen konnte, wie viel die gegebene Menge der Flüssigkeit Bacterien enthielt. Die Zahl schwankte in 5 cmm zwischen 5000 und 20,000. Mit einer grossen Drahtöse aus dieser Flüssigkeit wurden zuletzt 10 ccm Agargelatine inficirt, dieselbe in sterilisirte Glasschälchen ausgegossen und in desinficirter Glasglocke aufbewahrt.

Wie die Züchtungsversuche in Fleischwasserpeptongelatine (bei Zimmertemperatur) ergaben, scheint es auch der längere Aufenthalt in den untersten Darmabschnitten und die damit verbundene chemische und physikalische Umänderung zu sein, die den Spaltpilzen von Nachtheil ist. Es wuchsen nämlich aus trägem Stuhle die Colonien viel spärlicher und langsamer als bei Diarrhöe und sonst bei rasch aufeinanderfolgenden Defäcationen (nach Genuss von viel Gemüse und Schwarzbrod).

Der Umstand, dass die Pilze bei rascher Durchwanderung des unteren Darmabschnittes im Verhältniss noch ziemlich lebenskräftig zu sein scheinen, dürfte vielleicht für die Infectionskraft der diarrhoischen Stühle bei Typhus, Cholera, Ruhr etc. von Bedeutung sein.

Aus den bisherigen Erwägungen ergibt sich, dass Bienstock's Behauptung, wornach nur 4 oder 5 Bacillenarten im Darne vorkommen sollen, auf unsicherer Grundlage beruht. Der mikroskopische Befund bei Untersuchung normaler frischer Fäces widerspricht derselben, wie bereits erwähnt, entschieden. Noch deutlicher aber beweisen die im normalen Colon gelegentlich von Selbstmordfällen gemachten, nunmehr zu schildernden Befunde die Hinfälligkeit der Bienstock'schen Annahme.

Beim Selbstmörder Nr. 1, welcher sich durch einen Schuss in die Schläfe entleibt und dessen Leiche über Nacht in einem sehr kalten Zimmer gelegen hatte, constatirte die am folgenden Morgen (innerhalb 18 Stunden) vorgenommene Section ganz normale Verhältnisse in den Körperorganen. Zur bacteriologischen Untersuchung wurden verschiedene Theile des Verdauungstractus herausgenommen, unter Verschluss gegen Staub bei Seite gebracht und die der Schleimhaut aufliegende Flüssigkeit etc. mikroskopisch untersucht.

In einer dem Oesophagus entnommenen Probe fand sich eine mässige Menge dicker Kurzstäbchen und Kugelformen, während im Ileum fast gar keine Bacterien zur Beobachtung kamen. Vom Dickdarm wurde ein Stück aus der Uebergangsstelle des Coecum in das Colon ascendens herausgeschnitten. Es war erfüllt von einem schwarzgrünlichen, breiigen Inhalt, dessen Reaction deutlich alkalisch war. Die Untersuchung ergab in demselben eine so grosse Menge von Spiralformen, dass ihre Zahl so ziemlich $\frac{1}{3}$ sämmtlicher Spaltpilze betrug. In etwas dicker aufgetragenen Stellen des gefärbten mikroskopischen Präparates traf man sie oft in ganzen Büscheln beisammen, die wohl dem Schlangenhaupt der Erinnyen nicht unähnlich sahen.

Gestalt und Grösse dieser Spiralformen ist ein wenig verschieden von der in der Mundhöhle vorkommenden *Spirochaete denticola*; sie scheinen von etwas zarterem Baue zu sein und Weite und Höhe der Windungen ist bedeutender. Im frischen Präparat untersucht zeigten sie keine Eigenbewegungen und färbten sich auf Jodzusatz intensiv gelb. Ihre Dicke betrug etwa $0,2 \mu$, die Höhe eines Schraubenumganges durchschnittlich $3,8 \mu$. Manche Spiralformen besaßen 4 und sogar mehr Schraubenumgänge; viele dagegen nur 2, ähnlich denjenigen, wie sie der Koch'sche *Vibrio* in manchen Nährlösungen zeigt.

Beim Selbstmörder Nr. 2, der sich durch einen Schuss in das Herz getötet hatte und dessen Leiche binnen wenigen Stunden zur Obduction gelangte, constatirte dieselbe ausser Arachnoidealtrübungen ebenfalls ganz normale Verhältnisse. Zur Untersuchung kam wieder das Anfangsstück des Colon ascendens. Sein Inhalt war dunkelbräunlich, die Reaction schwach alkalisch. Die mikroskopische Untersuchung ergab eine noch grössere Menge von Spiralformen, ihre Zahl betrug $\frac{2}{15}$ aller vorhandenen Spaltpilze. Ihre Gestalt, Grösse und mikroskopisches Verhalten war ebenso wie im 1. Falle.

Alle diese Spiralformen färbten sich bei gewöhnlicher Färbemethode sehr gering und konnten daher bei nicht gehörig dünn aufgetragenen Präparaten unter den mitgefärbten Darmflüssigkeiten und Speisefragmenten möglicherweise verschwinden. Man musste desshalb den Farbstoff (Gentianaviolett) ein paar Minuten unter Wärmeanwendung einwirken lassen. Dadurch wurde ein gut gefärbtes Präparat zu Stande gebracht. Conservirte man dasselbe für einen halben Tag in Nelkenöl, so wurde währenddessen der Farbstoff aus den mitgefärbten Schleimmassen herausgezogen und die Spaltpilze kamen fast isolirt gefärbt zur Anschauung.

Anfangs Juni wurde dem Pilzlaboratorium des k. Operationscursus durch die Güte des Herrn Dr. Werner aus dem pathologischen Institute das Anfangsstück des Dickdarmes von drei weiteren Selbstmördern überliefert, die sich ebenfalls durch Schusswaffen das Leben genommen hatten.

Zwei Fälle davon ergaben positive Resultate, während im Coloninhalt des dritten und dann noch eines späteren vierten (militärischen) Falles keine Spiralformen zu entdecken waren. Allerdings reagirte bei beiden letzteren der Dickdarminhalt ziemlich stark sauer.

Die Befunde in den beiden positiven Fällen sind kurz folgende:

Vom Selbstmörder Nr. 3 wurde durch die Section ein ganz normaler Befund aufgenommen. Zur mikroskopischen Untersuchung wurde der Inhalt des Cöcums verwendet. Derselbe war von breiiger Consistenz, seine Reaction neutral. Die Spiralformen betrugen fast $\frac{2}{5}$ von sämmtlichen übrigen Spaltpilzen; ausserdem waren auch ziemliche Mengen von Kommaformen zu sehen, wie sie eben auch im normalen Stuhle häufig zur Beobachtung kommen.

Der Cöcuminhalt des Selbstmörders Nr. 4 reagirte schwach sauer; er enthielt nur wenig Spiralformen, ihr Zahlenverhältniss zu den übrigen Bacterien belief sich auf etwa 1:50.

Diese Befunde, welche in 6 noch frisch zur Untersuchung gelangten Selbstmordfällen viermal Spiralformen entdecken liessen, gestatten verbunden mit den bei den Fäcesuntersuchungen erlangten Resultaten mit grosser Sicherheit die Behauptung, dass wenigstens in einer häufigen Zahl von Fällen spiralförmige Vibrionen im normalen menschlichen Darmcanal zu finden sind und bei günstigen Ernährungsbedingungen sich vermehren können. Wie sie dorthin gelangen, muss man nach dem oben Angeführten dahingestellt sein lassen; möglicherweise aber entstammen sie der Mundhöhle.

Es erübrigte nun die Aufgabe, die in dem Darminhalt der Selbstmörder vorhandenen Vibrionen, wenn möglich, durch Isolirungsculturen rein zu züchten. Wirklich gelang dabei eine interessante Entdeckung, indem in dem normalen Cöcuminhalte des Selbstmörders Nr. 3 ein Vibrio, höchst wahrscheinlich der Finkler-Prior'sche „Kommabacillus“, der ursprünglich von seinen Entdeckern aus einer Darmentleerung von Cholera nostras erhalten worden war, vorgefunden wurde.

Die Isolirungsculturen wurden auf dreierlei Art ausgeführt:

1) Das Plattenverfahren mit Fleischwasser-peptongelatine bei Zimmertemperatur. Dasselbe

erwies sich jedoch als nutzlos, indem dabei merkwürdiger Weise trotz erwiesener günstiger Beschaffenheit der Nährgelatine und trotz reichlicher Aussaat von mikroskopisch nachweisbaren Keimen überhaupt keine Spaltpilzcolonie zur Entwicklung gelangte.

Es liefert dies wieder einen schlagenden Beweis für die oben aufgestellte Behauptung, dass in Nährgelatine keineswegs alle überhaupt vermehrungsfähigen Keime zur Entwicklung gelangen.

Viel günstiger für das Wachsthum der Bakterien gestaltete sich

2) die Verdünnungsmethode mit Nährlösungen. Diese dürfte für Fäcesuntersuchungen das beste Isolierungsverfahren bilden, da in Lösungen die geschwächten Bakterien weit eher als in Nährgelatine sich vermehren. Freilich ist sie nicht so bequem, wie die Plattencultur.

Obwohl die Verdünnungsmethode im Allgemeinen bekannt ist, so erscheint es doch angezeigt, das im gegenwärtigen Falle eingeschlagene Verfahren etwas näher zu schildern, um darzuthun, in welcher Weise ein solcher Versuch verläuft und welche Resultate dabei erlangt werden:

Fleischwasser- (oder Fleischextract-) Peptonlösung mit Soda alkalisirt, wurde zu je 10 ccm in sterilisirte Proberöhrchen eingefüllt und im Dampfkessel erhitzt. Von diesen Röhrchen wurde eine Anzahl zur Probe ihrer Sterilität in den Wärmekasten gestellt und das dauernde Freibleiben von Pilzkeimen constatirt. Aus der bereits früher erwähnten Fäces-suspension (Vermischung von 5 cmm Coloninhaltes mit 10 ccm sterilisirten Wassers) wurde eine 5 cmm haltende grosse Drahtöse in eine bestimmte Menge sterilisirten Wassers übertragen, tüchtig umgeschüttelt und aus dieser bekannten Verdünnung mit je 5 cmm eine Anzahl Nährlösungen infectirt. Durch bestimmte Variirung in der Menge des zur Verdünnung dienenden sterilisirten Wassers konnten leicht höhere Ver-

dünnungen bis zu dem Punkte erzielt werden, wo man annehmen durfte, dass durch jede Drahtöse nur mehr durchschnittlich ein einziger Keim zur Aussaat gelange.

Beim Inficiren beteiligten sich zwei Personen, so dass zwischen Oeffnen, Inficiren und Schliessen der schiefgehaltenen Röhrchen nur ein paar Secunden verstrichen und die Gefahr, es möchten währenddessen fremde Pilze in die Nährlösung hineingerathen, jedenfalls eine minimale war. Der sichere Beweis dafür liegt in dem Umstand, dass sämtliche hochgradige Verdünnungen absolut steril blieben, obwohl bei diesen die Gefahr einer Verunreinigung genau die gleiche gewesen wäre, wie bei den geringeren Verdünnungen.

Eine Verdünnungscultur des Coloninhaltes von Selbstmord Nr. 3, welche nach zwei Tagen untersucht wurde, möge als Beispiel angeführt werden:

I. 10,000 fache Verdünnung (10 cmm der Coloninhalts suspension in 100 ccm sterilisirten Wassers übertragen und daraus mit einer grossen Drahtöse 19 Röhrchen inficirt). Drei Röhrchen blieben steril; die übrigen enthielten entweder Reinculturen oder mehrere Bacterienarten neben einander:

Röhrchen 1) Ziemlich schmale und kurze Langstäbchen.

2) Mittelmässige Kurz- und Langstäbchen theils in Gliederketten aneinandergereiht.

3) Dicke Kurzstäbchen. Schmale Kurzstäbchen. Kleine Kugelformen. Grosse Kugel- und Ovalformen.

4) Ovalformen. Schmale Langstäbchen.

5) Ovalformen. Kurz- und Langstäbchen.

6) Das gleiche. Ferner riesigdicke und grosse Langstäbchen (Pankreaspilz?).

7) Schmale Kurzstäbchen.

8) Mittelmässige Kurz- und Langstäbchen.

9) Ziemlich kleine Ovalformen und Kurzstäbchen.

10) Das gleiche.

- 11) Schmale Kurz- und Langstäbchen.
- 12) Mittelgrosse Ovalformen und Kurzstäbchen.
- 13) Kurz- und Langstäbchen.
- 14) Dasselbe.
- 15) Kugelformen in Torulaketten. Kurz- und Langstäbchen.
- 16) Kleine Ovalformen, Kurz- und Langstäbchen.

II. 50,000 fache Verdünnung (hergestellt durch Vermischung von 2 ccm der 10,000 fachen Verdünnung mit 10 ccm sterilisirten Wassers und daraus mit einer grossen Drahtöse 14 Röhrchen inficirt). Fünf blieben steril, die übrigen enthielten alle bereits Reinculturen:

Röhrchen: 1) Ovalformen und Kurzstäbchen mit conisch abgerundeten Enden.

2) Dasselbe.

3) Kleine schmale Ovalformen.

4) Dasselbe.

5) Dasselbe.

6) Kleine rundlich ovale Formen (erwiesen sich bei Weiterzüchtung als Coccen).

7) Ziemlich grosse rundlich ovale Formen (erwiesen sich bei Weiterzüchtung als Coccen).

8) Ovalformen, Kurz- und Langstäbchen von ziemlicher Dicke.

9) Ovalformen, Kurz- und Langstäbchen.

III. 100,000 fache Verdünnung (hergestellt durch Zusatz von gleich viel sterilisirtem Wasser zur 50,000 fachen Verdünnung).

Es wurden 20 Röhrchen inficirt, die aber alle steril blieben. Das nämliche war bei den 17 Röhrchen der millionenfachen Verdünnung der Fall.

Der Umstand, dass gerade in den höchsten Verdünnungen nichts gewachsen ist, widerlegt die etwa gehegte Vermuthung, als sei die ganze Methode nicht genügend zuverlässig,

auf das beste; denn wenn in den Röhrchen mit schwächeren Verdünnungen Culturen fremder Bakterien gewachsen sein sollen, warum war das nicht auch in den höchsten Verdünnungen der Fall?

Wenn nun auch verschiedenartige Spaltpilze bei der Verdünnungsmethode gezüchtet wurden, so gelang es merkwürdigerweise doch nicht, die Vibrionen zu isoliren, sei es, weil die richtigen Nährbedingungen für diese nicht gegeben, oder weil sie bei der Aussaat zufälligerweise übergangen worden waren (?).

Als dritte Art von Isolirungsculturen restirte noch

3) die Differenzirung durch chemische Mittel d. h. durch Zusätze, mittelst deren Spaltpilze, welchen die betreffenden Agentien zu statten kommen, gegenüber anderen in ihrem Wachsthum begünstigt werden können.

Vor Kurzem war gelegentlich anderer Untersuchungen die Beobachtung gemacht worden, dass der Koch'sche Vibrio in Nährlösungen bei Zusatz von Kaliseife anderen Bakterien gegenüber relativ begünstigt sei. Demnach hatte es eine gewisse Wahrscheinlichkeit für sich, dass auch andere Vibrionen durch dieses Mittel aus einem Gemisch von Spaltpilzarten herauscultivirt werden könnten.

Es wurden daher Versuche mit Kaliseifezusätzen zu Nährlösungen angestellt, welche, abgesehen von ihrem nächsten Zweck, auch insoferne von allgemeinem Interesse sind, als durch dieselben die angeblich vorhandene desinficirende Wirkung der Kaliseife sich als illusorisch herausstellte. Die diesbezüglichen Ergebnisse werden am Schlusse mitgetheilt werden. Hier handelt es sich zunächst nur um die Isolirung der im Coloninhalte vorhandenen Vibrionen.

Die Versuche wurden in folgender Weise angestellt: Kleine Flaschen mit je 50 ccm Fleischextractpeptonlösung wurden im Dampfkessel sterilisirt, hierauf $2\frac{1}{2}$, 5, $7\frac{1}{2}$ und

10 cem 20 procentiger erhitzter ³⁾ Kaliseifelösung zugesetzt, so dass der Gehalt an Kaliseife 1, 2, 3 und 4 Proc. betrug. Diese Lösungen wurden mit dem Cöcuminhalt vom Selbstmörder Nr. 3 inficirt und in den Wärmekasten gestellt. Nach 3 Tagen war bei 1, 2 und 3 Proc. Kaliseife schwache Randbildung aufgetreten. Die mikroskopische Untersuchung ergab in diesen Randbildungen etwas gequollene, verdickte, körnige Vibrionen und ausserdem noch einen anderen Spaltpilz, Kurzstäbchen; bei 2 Proc. Kaliseife waren aber erstere überwiegend.

Man wendete nun die Verdünnungsmethode an und erzielte damit die Vibrionen in Reincultur. Sie bildeten sehr schöne, schlanke Kommaformen und besaßen eine lebhaftige Eigenbewegung. Mikroskopisch gleichen sie also völlig dem Koch'schen oder auch dem Finkler-Prior'schen Kommabacillus.

Es entstand nun die Frage, ob der neu aufgefundene Vibrio einer dieser beiden genannten Arten angehöre, oder ob derselbe eine neue, bis jetzt unbekannte Art repräsentire.

Das weitere Culturverfahren musste darüber Aufklärung geben.

I. Bei Plattencultur mit Fleischwasserpeptongelatine ergibt sich folgender Befund:

Die allerjüngsten Colonien des neuen Vibrio sind annähernd kreisrund, besitzen einen scharfen Rand und blassgelbes, gekörntes Innere. Sehr bald aber wird mit dem Grösserwerden der Colonie der Rand schwach gezackt, das Innere intensiver gelblich, die Granulirungen nehmen an Dimension zu, so dass die Colonie ein maulbeerförmiges Ansehen oder das einer aus einzelnen festgefügtten polyedrischen Stücken zusammengesetzten Kugel gewinnt. Mit dem Ausbreiten der

3) Die Erhitzung der Kaliseifenlösung geschah in der Weise, dass sie in eine wohl verschliessbare Flasche gebracht und mit derselben eine Stunde lang in kochendes Wasser gestellt wurde.

Colonie werden die äusseren Parthien allmählig blässer, feingranulirt und feinfaserig, der Rand wird schliesslich pelzartig. Ist die Colonie nun soweit gediehen, so greift sie, die umgebende Gelatine verflüssigend, rasch um sich; sie kann dabei eine kreisrunde Form beibehalten; in ihrem Innern zeigt sie feine Granulirungen, welche lebhaft durcheinanderwimmeln, während als Kern in der Mitte noch ein dunkler, gelbbrauner Fleck aus groben unregelmässigen Granulirungen bestehend als letzter Rest der ursprünglichen jungen Colonie übrig bleiben kann.

Die mittelgrossen Colonien haben mit denen des Koch'schen *Kommabacillus* grösste Aehnlichkeit; jedoch in ihrer Jugend unterscheiden sie sich wesentlich von ihnen. Während nämlich die Koch'schen Colonien schon bei ihrem Entstehen eine gezackte Gestalt besitzen und weiterhin aus einem lockeren Gefüge von Glasperlen zusammengesetzt erscheinen, verlieren die des neuen *Vibrio* erst im zweiten Stadium ihre rundliche Begrenzung und erscheinen dann viel compacter und auch dunkler. Ausserdem verflüssigen sie die Gelatine viel rascher. Dagegen stimmt das Wachsthum der Colonien in allen Stadien mit dem des Finkler-Prior'schen *Vibrio* überein, wie dies durch Parallelversuche nachgewiesen wurde. Die ganze eben angeführte Beschreibung gilt auch vom Finkler'schen.

II. Auf Kartoffel (bei 37° C) gezüchtet, bildet der neue *Vibrio* übereinstimmend mit dem Finkler-Prior'schen auf der Schnittfläche einen blassgelben, fettglänzenden Ueberzug mit weisslichem Saume.

Die mikroskopische Untersuchung zeigt bei beiden auffällige Quellungserscheinungen, wodurch die Komma's zu verdickten Spindeln und schliesslich beinahe kugelig werden, mit einzelnen Körnern im Innern.

Der Koch'sche „*Kommabacillus*“ dagegen, der zum Vergleich ebenfalls auf Kartoffel (bei 37° C) gezüchtet wurde,

bildet einen homogen braungelben Ueberzug und unterscheidet sich auch mikroskopisch durch seine schönen schlanken Formen.

Durch das Resultat dieser Culturversuche ist es also sehr wahrscheinlich gemacht, dass der aus dem Darminhalt des Selbstmörders isolirte „Kommabacillus“ der Finkler-Prior'sche sei.

Es könnte noch die Frage erhoben werden, ob derselbe wirklich dem Darminhalte entstamme oder ob er durch irgend welche Verunreinigung in die Nährlösung hineingerathen sei. Das Letztere ist jedoch gänzlich unwahrscheinlich. Es wurde mit dem Finkler-Prior'schen *Vibrio* schon seit längerer Zeit nicht mehr gearbeitet, wohl aber mit dem Koch'schen; und da die Vibrionen durch einen längeren Aufenthalt in der Luft zu Grunde gehen, so ist es vollständig ausgeschlossen, dass von dieser Seite her eine Verunreinigung stattfinden konnte. Ausserdem wurde noch ein zweiter, dem vorher angeführten ganz ähnlicher Versuch mit verschiedenen Procent-sätzen von Kaliseife angestellt, der überall Kommaformen ergab, wenn auch in verschiedener Menge. Als am günstigsten erwies sich wieder der Zusatz von 2 Procent.

Man muss es dahin gestellt sein lassen, ob dieser aus dem normalen Colon des Selbstmörders herauscultivirte *Vibrio* den dort mikroskopisch nachgewiesenen Spiralformen entstammt oder nicht; möglich wäre es allerdings, da ja auch der Finkler-Prior'sche *Vibrio* die verschiedensten Wuchsformen in den einzelnen Nährlösungen eingehen kann. Da aber neben den Spiralformen auch noch kommaförmige Spaltpilze zu sehen waren, so wäre auch die Möglichkeit zuzulassen, dass er von diesen abstamme.

Immerhin ist es sehr interessant, dass es nunmehr auch gelang, aus dem normalen Darms *Vibrionen* herauszuzüchten, was bis jetzt nur aus pathologischen Stühlen der Fall war.

Es dürfte von Wichtigkeit sein, bezüglich der angeblichen Desinfectionskraft der Kaliseife ein paar Versuche zu veröffentlichen, da in Folge der Resultate, welche gelegentlich von Desinfectionsversuchen an Milzbrandbacillen von Koch in den „Mittheilungen des kaiserl. Gesundheitsamtes“ Bd. I. p. 271 berichtet sind, vielfach die Ansicht verbreitet scheint, als handle es sich bei der Kaliseife um ein Desinficiens im strengen Sinne des Wortes. So stützt sich A. Wernich in Berlin bereits auf dieses Resultat Koch's und zählt in seiner im Reichsmedicinalkalender pro 1884 erschienenen „Anleitung zum Desinfectionsverfahren“ die Kaliseife wirklich zu den Desinfectionsmitteln. Er gibt zu diesem Zwecke bereits die Bereitung der Kaliseifenlauge an, wobei 15 gr Schmierseife in 10 Liter Wasser aufgelöst werden sollen, was einer 0,15 procentigen Lösung entspricht (wenn nicht die Kaliseife durch den doppelkohlensauren Kalk des Wassers zum guten Theil zersetzt wird).

Der oben citirte Passus von Koch's Mittheilungen lautet: „Dennoch ist die Thatsache, dass Kaliseife bei 1:5000 schon eine Behinderung und bei 1:1000 vollständige Aufhebung der Entwicklung bewirkt, während Kali für sich achtmal niedrigere Grenzwerte aufweist, kaum anders zu erklären, als dass gewisse Bestandtheile der Kaliseife, höchst wahrscheinlich die eine oder andere Fettsäure, ein ziemlich bedeutendes Behinderungsvermögen für die Entwicklung der Milzbrandbacillen besitzt“.

Nun hat Kaliseife allerdings die Eigenschaft, schon bei 0,1 Proc. den Milzbrandbacillus in seinem Wachsthum zu hemmen; allein gerade der Milzbrandbacillus ist sehr empfindlich gegen chemische und physikalische Einflüsse und erscheint deshalb zu Desinfectionsversuchen, aus denen weitergehende Schlüsse abgeleitet werden sollen, sehr wenig geeignet.

Andere pathogene Bakterien gedeihen noch ganz gut in viel höheren Procentsätzen von Kaliseife. Der Typhusbacillus wächst sogar noch bei 2 Procent.

Der Koch'sche „Kommabacillus“ scheint geradezu gegenüber anderen Bakterien durch Kaliseife begünstigt zu werden.

Folgender Versuch hat ergeben, dass 5 Proc. (also 50 mal mehr als beim Milzbrandbacillus) noch lange nicht im Stande sind, denselben im Wachsthum zu hindern:

Fleischwasserpeptonlösung wurde im Dampfkessel sterilisirt; ebenso 20 procentige Kaliseifenlösung für sich im Wasserbade erhitzt; von derselben je nach den Procentsätzen in fünf kleine sterilisirte Fläschchen zu je 20 ccm Nährlösung 1 ccm bis 5 ccm hinzugefügt, so dass eine 1—5 proc. Kaliseifenlösung entstand. Nach der Inocirung mit dem Koch'schen Vibrio wurden die Fläschchen in den Wärmekasten gestellt. Schon nach 2 Tagen zeigte sich bei jedem Procentsatz Decken- und Randbildung — ein Zeichen, dass der Spaltpilz noch ein sehr behagliches Gedeihen gefunden hatte. Die mikroskopische Untersuchung ergab die „Kommabacillen“ in der zierlichsten gekrümmten Gestalt.

Weitere Versuche ergaben entsprechende Resultate.

Es wurde nun noch festgestellt, ob Kaliseife im Stande sei, die gewöhnliche Fleischfäulniss zu verhindern.

Der Versuch wurde wie folgt angestellt:

Je 10 g feingehacktes, rohes, fettfreies Rindfleisch wurde in Erlenmeyer Kölbchen gebracht und mit je 50 ccm Kaliseifenlösung von verschiedenem Procentgehalt (2—10 Proc.) übergossen, so zwar, dass es ganz von derselben bedeckt war. Die Kölbchen wurden mit Watte dicht verschlossen, theils in die Wärme gestellt, theils der Zimmertemperatur ausgesetzt und sich selbst überlassen. Nach 2 Tagen zeigte sich schon überall Fäulnissgeruch, ferner bei den Proben mit niederen Procentsätzen auch Rand- und Deckenbildung. Hineingehan-

genes Bleipapier färbte sich in kurzer Zeit dunkel. Das Resultat bei den einzelnen Proben war dieses:

A. Zimmertemperatur:

2 Proc. Kaliseife: Fäulniss- und ätherischer Geruch. Starke Deckenbildung. Sehr schmale und gracile Langstäbchen. Einige dicke Langstäbchen in Gliederketten aneinandergereiht.

4 Proc. Aetherischer und Fäulnissgeruch. Decken- und Randbildung. Ziemlich kleine Kurz- und Langstäbchen.

6 Proc. Schwache Deckenbildung. Fäulnissgeruch. Sehr kleine Ovalformen, Kurz- und Langstäbchen. Sehr dicke und grosse Langstäbchen (Pancreaspilz?).

8 Proc. Schwacher Fäulnissgeruch. Einzelne Pilzflocken. Sehr kleine Ovalformen, Kurzstäbchen und Langstäbchen. Ovalformen. Dicke Fadenformen.

10 Proc. Keine Decke. Schwacher Fäulnissgeruch. Schmale Lang- und Kurzstäbchen. Mitteldicke Ovalformen.

B. 37° C.

2 Proc. Starke Deckenbildung. Intensiver Fäulnissgeruch. Dicke Langstäbchen mit conischen Enden. Kleine schmale Langstäbchen.

4 Proc. Einzelne Deckflocken. Fäulnissgeruch. Dicke Kurz- und Langstäbchen und Fadenformen mit conischen Enden. Minimale Kurz- und Langstäbchen.

6 Proc. Rand. Fäulnissgeruch. Kleine Kurz- und Langstäbchen. Aeusserst grosse Ovalformen. Dicke Kurz- und Langstäbchen.

8 Proc. Ausgesprochener Fäulnissgeruch. Schmale Ovalformen, Kurz- und Langstäbchen. Ovalformen und Kurzstäbchen.

10 Proc. Fäulnissgeruch. Sehr kleine schmale Langstäbchen. Ovalformen in Torulaketten. Dicke Ovalformen und Kurzstäbchen.

Kaliseife war also bei 10 Proc. noch nicht im Stande, die Fäulniss des Fleisches zu verhindern; weitere Versuche mit höheren Procenten wurden nicht mehr angestellt, denn ein Agens, das bei 10 Proc. noch nicht antiseptisch wirkt, ist ebenso wenig ein Desinfectionsmittel wie z. B. Kochsalz oder Soda.

Angesichts der eben angeführten Resultate muss die antiseptische Eigenschaft der Kaliseife auf das entschiedenste verneint werden.

Zum Schlusse ergreife ich die Gelegenheit, Herrn Privatdocenten Dr. Hans Buchner für die mir gewordene Unterstützung meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen; ebenso danke ich Herrn Professor Dr. O. Bollinger für die gütige Uebernahme des Präsidiums.

